

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboraturium Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Peternakan Universitas Muhammadiyah Malang. Kegiatan ini dimulai pada bulan Januari hingga April 2018.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan untuk pembuatan *jelly drink* buah siwalan diantaranya panci, sendok, spatula, timbangan, kompor gas, pisau, baskom, pengukus, saringan, blender, corong, kertas saring, thermometer, dan cup.

Alat-alat yang digunakan untuk analisis kimia adalah pipet ukur, beker glass, corong, pipet tetes, botol timbang, tabung reaksi, mortal martil, kertas saring, plastik, gelas ukur, aluminium foil, kuvet, rak tabung reaksi, botol gelap, tissue, desikator merk Glaswerk Wertheim 6132, *texture analyzer EZ Test tipe EZ-SX merk SHIMADZU*, *spektrofotometer UV Visible tipe UV-1800 merk SHIMADZU*, *spektrofotometer thermo spectronic merk GENESYS 20*, timbangan analitik *Pioneer Ohaus PA413*, *color reader CR-10 merk KONICA MINOLTA*, *hand refractometer tipe N1-a merk ATAGO*, viscometer rion tipe VT-04, oven merk *WTC Binder 7200 tipe E53 no. 89749*, sentrifuse, sentrifuse dingin merk SHIMADZU, pH meter tipe 857 (*SI Analytics*).

3.2.2 Bahan

Bahan baku utama buah siwalan yang digunakan pada pembuatan *jelly drink* diperoleh Kabupaten Tuban kecamatan Semanding dengan umur panen 4 bulan

dengan ciri-ciri daging buah siwalan yang sudah tua dengan tekstur keras dan berwarna putih, sedangkan buah naga merah dari toko buah “*Fresh Everyday*” Dinoyo-Malang dengan umur panen 50 hari dengan ciri-ciri kulit buah naga berwarna merah mengkilap dan jumbai atau sisik berubah warna kemerahan. Bahan penunjang yang digunakan adalah gula, asam sitrat, dan karagenan.

Bahan-bahan kimia untuk analisis pembuatan *jelly drink* buah siwalan diantaranya aquadest, serbuk DPPH (*2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil*), HCl 37%, serbuk KCl, serbuk Na-asetat, ethanol 96%, dan methanol 96%.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) Faktorial dengan 2 faktor, dimana faktor 1 adalah proporsi ekstrak kulit dan daging buah naga merah dengan sari buah siwalan. Faktor II adalah konsentrasi karagenan, sehingga diperoleh 12 kombinasi dan 3 kali ulangan.

Faktor I = Proporsi ekstrak pigmen kulit dan daging buah naga merah dengan sari buah siwalan

A0 = sari buah siwalan 200 ml

A1 = ekstrak kulit dan daging buah naga merah 30 ml dengan sari buah siwalan 170 ml

A2 = ekstrak kulit dan daging buah naga merah 40 ml dengan sari buah siwalan 160 ml

A3 = ekstrak kulit dan daging buah naga merah 50 ml dengan sari buah siwalan 150 ml

Faktor II = Karagenan (%)

D1 = 0,2

D2 = 0,3

D3 = 0,4

Setelah dikombinasi terdapat 12 perlakuan. Sehingga akan didapatkan kombinasi sebagaimana di tampilkan dalam matriks perlakuan pada Tabel 4 berikut ini:

Table 4. Matriks Kombinasi Perlakuan

Perlakuan	D1	D2	D3
A0	A0D1	A0D2	A0D2
A1	A1D1	A1D2	A1D2
A2	A2D1	A2D2	A2D2
A3	A3D1	A3D2	A3D2

Keterangan:

A0D1= sari buah siwalan 200 ml dengan karagenan 0,2%

A1D1= ekstrak pigmen kulit dan daging buah naga merah 30 ml : sari buah siwalan
170 ml dengan karagenan 0,2%

A2D1= ekstrak pigmen kulit dan daging buah naga merah 40 ml : sari buah siwalan
160 ml dengan karagenan 0,2%

A3D1= ekstrak pigmen kulit dan daging buah naga merah 50 ml : sari buah siwalan
150 ml dengan karagenan 0,2%

A0D2= sari buah siwalan 200 ml dengan karagenan 0,3%

A1D2= ekstrak pigmen kulit dan daging buah naga merah 30 m : sari buah siwalan
170 ml dengan karagenan 0,3%

A2D2= ekstrak pigmen kulit dan daging buah naga merah 40 ml : sari buah siwalan
160 ml dengan karagenan 0,3%

A3D2= ekstrak pigmen kulit dan daging buah naga merah 50 ml : sari buah siwalan
150 ml dengan karagenan 0,3%

A0D3= sari buah siwalan 200 ml dengan karagenan 0,4%

A1D3= ekstrak pigmen kulit dan daging buah naga merah 30 ml : sari buah siwalan
170 ml dengan karagenan 0,4%

A2D3= ekstrak pigmen kulit dan daging buah naga merah 40 ml : sari buah siwalan
160 ml dengan karagenan 0,4%

A3D3= ekstrak pigmen kulit dan daging buah naga merah 50 ml : sari buah siwalan
150 ml dengan karagenan 0,4%

3.4 Prosedur Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan melalui dua tahap, yaitu tahap pendahuluan untuk mengidentifikasi masalah dan tahap pelaksanaan penelitian yang bertujuan memperoleh data, analisa data, dan penemuan perlakuan terbaik.

3.4.1 Pembuatan Sari Buah Siwalan (Pudja, 2011)

Proses pembuatan sari buah siwalan dengan tahapan sebagai berikut: buah siwalan di sortasi dan dilakukan pembelahan untuk memisahkan kulit, biji, dan daging buah siwalan. Selanjutnya setelah diperoleh daging buah siwalan tua dengan tekstur yang keras dan berwarna putih. Kemudian buah siwalan dipotong-potong dadu dan di blanching selama 3 menit dengan suhu 60°C, selanjutnya di blender hingga halus (5-7 menit) dengan perbandingan air (1:3), kemudian disaring dan didapatkan sari buah siwalan.

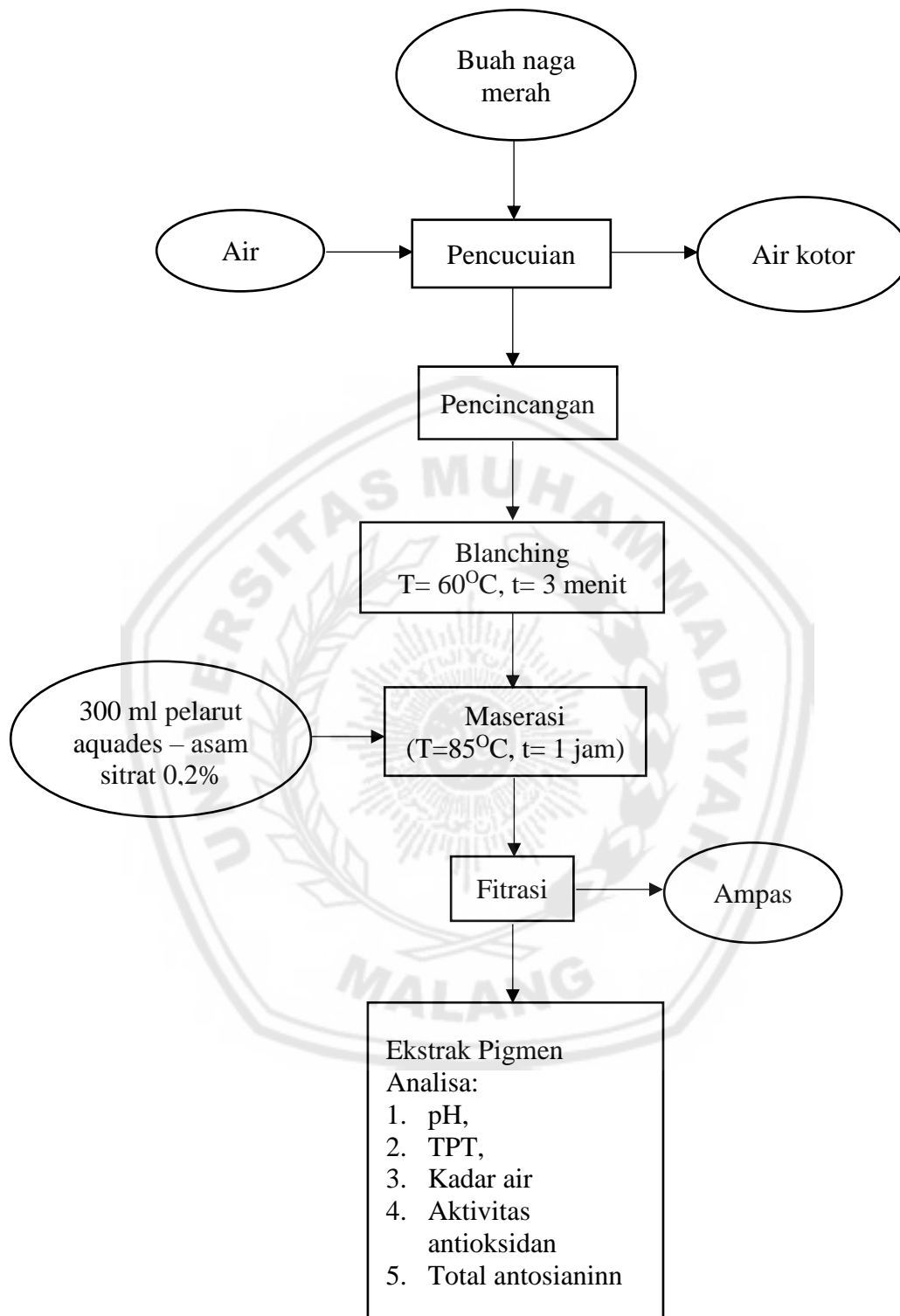
3.4.2 Pembuatan Ekstrak Kulit dan Daging Buah Naga Merah (Saati, 2014)

Proses ekstraksi dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan aquades dan menggunakan metode maserasi. Proses ekstraksi menggunakan aquades bertujuan untuk mempermudah penggunaan ekstrak dalam pengolahannya menjadi bahan pangan. Tahapan proses pembuatan ekstrak kulit dan daging buah naga yaitu pertama-tama bahan baku yang telah disortasi dan masih segar dilakukan pengecilan ukuran dengan dicincang dan dimaserasi (90 gram bahan dalam 300 ml pelarut aquades) dan diblanching selama 3 menit kemudian direndam dalam aquades dengan asam sitrat 0,2% dengan suhu 85°C selama 1 jam. Selanjutnya dilakukan filtrasi dengan menggunakan kertas saring dan fitratnya disimpan pada lemari pendingin pada suhu 10-20°C selama 24 jam.

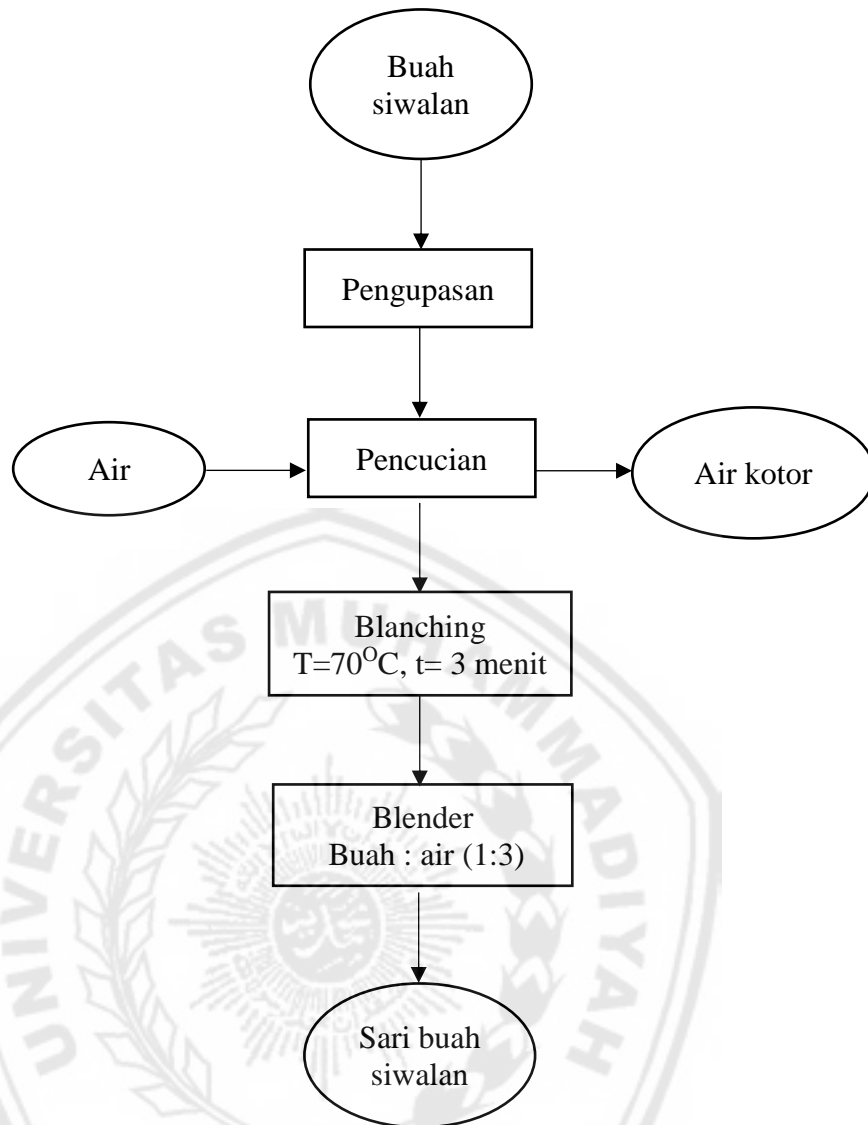
3.4.3 Pembuatan *Jelly Drink* (Nilam, 2016)

Sari buah siwalan yang sudah didapat, kemudian dpanaskan dengan perlakuan yaitu perbandingan sari buah siwala dengan ekstrak kulit dan daging buah ngaa merah (60:40%), dengan perlakuan (0 ml, 30 ml, 40 ml dan 50 ml), penambahan karagenan (0,2%; 0,3%; 0,4%), asam sitrat 0,1% dan larutan gula 40%. Kemudian dimasukkan ke dalam *cup* gelas dan dididihkan *jelly drink*.

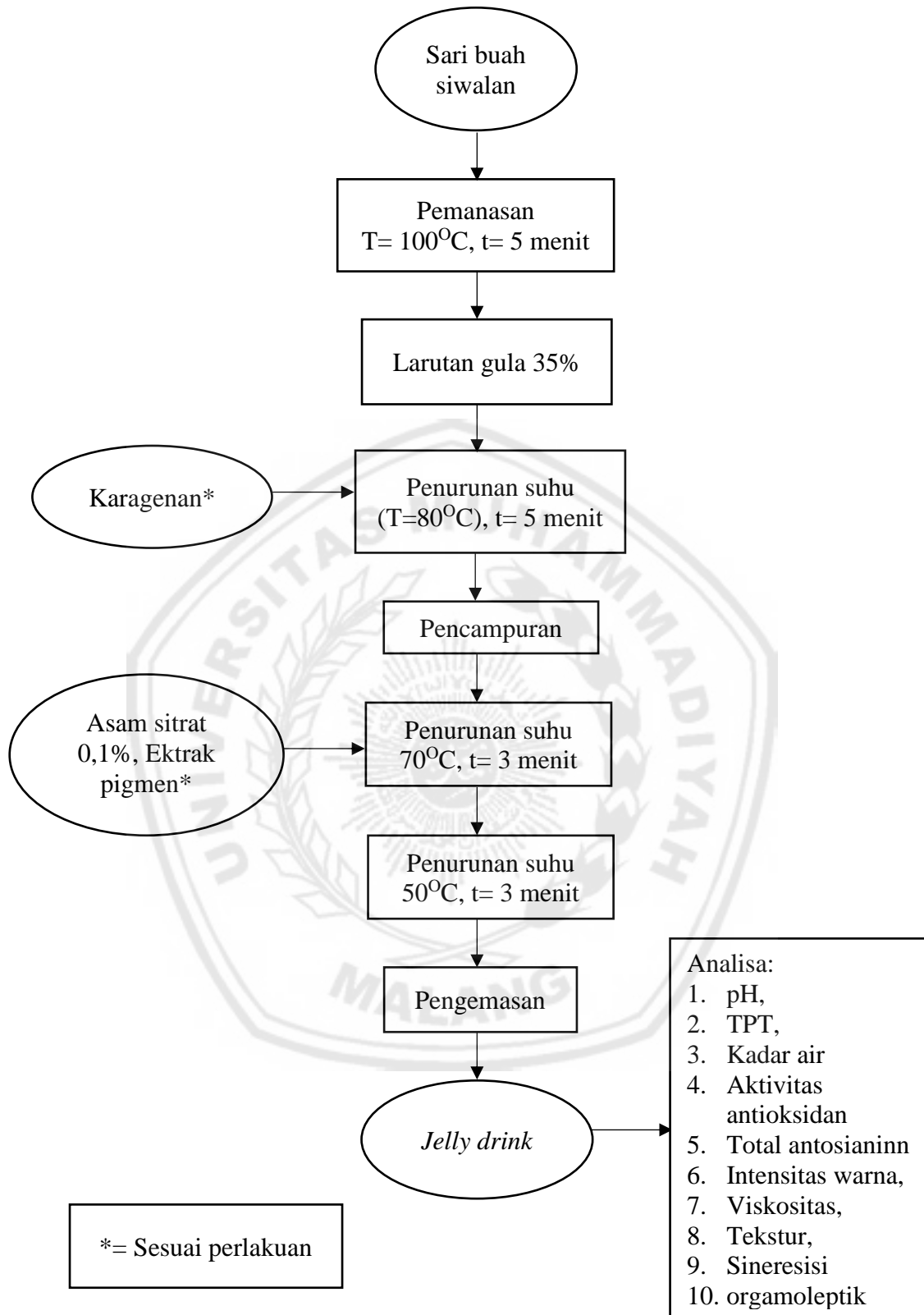
3.4.4 Diagram Alir Proses



Gambar 11. Diagram Alir Ekstraksi Pigmen Alami (Saati, 2014) dengan modifikasi



Gambar 12. Diagram alir pembuatan sari buah siwalan (Pudja, 2011) dengan modifikasi



Gambar 13. Diagram alir pembuatan *jelly drink* siwalan (Nilam, 2016) dengan modifikasi

3.5 Parameter Penelitian

Parameter yang diujikan pada penelitian ini meliputi analisa kadar air, pH, total padatan terlarut (TPT), viskositas, tekstur (*Hardness*), sineresis, aktivitas antioksidan, kadar antosianin, analisa warna, dan analisa organoleptik.

3.5.1 Analisa pH meter (Apriyantono, 1989)

Prinsip dari analisis nilai pH dengan menggunakan pH meter adalah berdasarkan pengukuran potensial antara elektroda indikator dengan elektroda pembanding atau pengukur aktivitas ion hydrogen secara potensiometri atau elektrometri. Adapun tahapan analisis nilai pH dengan menggunakan pH meter, sebagai berikut:

1. Menyalakan pH meter
2. Membilas elektroda dan temperature probe menggunakan aquades dan mengeringkannya
3. Melakukan kalibrasi dengan menyelupkan elektroda pada larutan penyangga metral (pH 7) serta asam (pH 4) dan membersihkannya
4. Membilas kembali elektroda menggunakan aquade dan mengeringkannya
5. Mencilupkan elektroda pada sampel, dengan menekan Ar (hold) dan enter, kemudian menunggu pembacaan pada layar hingga stabil serta muncul indicator autoplock pada layar
6. Mencatat nilai yang tertera pada layar digital

3.5.2 Analisa Total Padatan Terlarut (Vasquez dan Mueller, 2000)

Prinsip dari Analisis total padatan terlarut adalah penentuan kadar gula yang didasarkan atas indeks biasa larutan dengan menggunakan bantuan alat refractometer. Adapun tahapan Analisa total padatan terlarut, sebagai berikut:

1. Membuka penutup kaca prisma
2. Melakukan klarifikasi alat dengan meneteskan aquades (2-3 tetes) pada kaca prisma
3. Mengarahkan refractometer ke arah cahaya dan melihat pembacaan skala melalui lobang teropong pada skala 0%
4. Membersihkan kaca prisma dengan tissue
5. Membuka penutup kaca prisma dan meneteskan larutan *jelly drink* (2-3 tetes) ke atas permukaan kaca prisma
6. Menutup penutup kaca prisma dan mengarahkan ke arah cahaya
7. Membaca skala yang tertera pada garis batas.

3.5.3 Analisa Tekstur (Handoko, 2011)

Prinsip dari analisis konsistensi gel dengan menggunakan *texture analyzer* adalah pemberian tekanan pada sampel dengan jarak tertentu, hingga sebagian dari gel yang terbentuk hancur. Gaya yang diperoleh dinyatakan dalam satuan newton dan diambil sebagai nilai konsistensi gel. Adapun tahapan analisis konsistensi gel dengan menggunakan *texture analyzer*, sebagai berikut:

1. Memasang jig pada lubang alat *texture analyzer*
2. Menyalakan alat *texture analyzer* dan melakukan kalibrasi alat melalui program Trapesium X
3. Melakukan scanning jarak dan gaya pada sampel
4. Mengatur jarak penetrasi sampel setinggi 38 mm dan batas pemberian tekanan sebesar 100 N
5. Melakukan uji pada sampel dan mencatat nilai *hardness* dan energi yang terbaca pada alat

3.5.4 Analisa Sineresis (Shirai dkk, 1992; dalam Rauf, 2012)

Sineresi diukur dengan metode sentrifugasi yaitu 5 g sampel disentrifugasi (1500 rpm, 30 menit) pada suhu 10°C. Cairan dipisahkan dari gel dan kemudian ditimbang. Rasio bobot cairan dikalikan seratus merupakan persentase sineresis. Menghitung tingkat sineresis yaitu dengan rumus:

$$\text{Tingkat sineresis (\%)} = \frac{(B.\text{Tabung} + \text{cairan sampel}) - B.\text{Tabung kosong}}{B.\text{Sampel}} \times 100\%$$

3.5.5 Analisa Viskositas (Atkins, 1994)

Prinsip dari analisis viskositas dengan menggunakan viscometer rion adalah pengukuran gaya punter sebuah rotor silinder (spindle) yang dicelupkan dalam sampel. Semakin kuat putaran, maka semakin besar hambatan, sehingga semakin tinggi viskositasnya. Adapun tahapan analisis viskositas dengan menggunakan viscometer rion, sebagai berikut:

1. Memasukkan bahan dalam gelas piala atau tabung uji
2. Memilih jarum spindle sesuai dengan tingkat kekentalan bahan
3. Memasukkan pangkal jarum spindle pada lubang penghubung rotor
4. Menurunkan jarum spindle hingga batas mengenai bahan
5. Menyalakan saklar alat, hingga nilai yang ditunjuk skala stabil

3.5.6 Analisa Kadar Air Metode Oven (AOAC, 2005)

Prinsip dari analisa kadar air metode oven adalah menguapkan molekul air bebas (H₂O) yang ada didalam bahan pada waktu dan suhu tertentu, hingga diperoleh kadar air konstan. Adapun tahapan analisis kadar air sebagai berikut:

1. Mengeringkan botol timbang yang akan digunakan dalam oven selama 24 jam dengan suhu 100-105°C.

2. Mendinginka botol timbang dalam desikator selama 15 menit
3. Menimbang bobot botol timbang sebagai berat botol (A)
4. Menimbang bahan sebanyak 2 gram kedalam botol timbang yang telah dikeringkan, dan dicatat beratnya sebagai berat bahan dalam cawan (B)
5. Mengeringkan sampel dalam oven pada suhu 100-105°C selama 6 jam
6. Mendinginkan sampel dalam desikator selama 15 menit
7. Menimbang kembali sampel sebagai bobot akhir sampel (C)
8. Menghitung kadar air sampel dengan rumus:

$$\% \text{ kadar air} = \frac{B-C}{B-A} \times 100\%$$

3.5.7 Analisa Kadar Antosianin Metode pH Differensial (AOAC, 2005)

Penetapan antosianin dilakukan dengan metode perbedaan pH yaitu pH 1,0 dan pH 4,5. Pada pH 1,0 antosianin berbentuk senyawa berwarna ovonium dan pH 4,5 berbentuk karbinol tak berwarna. Hal tersebut dapat dilakukan dengan membuat suatu alikuot larutan antosianin dalam air yaitu pH-nya 1,0 dan 4,5 untuk kemudian diukur absorbansinya.

3.5.7.1 Pembuatan Larutan Buffer pH 1,0 dan pH 4,5

Untuk membuat larutan *buffer* pH 1,0 digunakan KCl sebanyak 1,86 gram dicampur dengan 980 ml air suling (aquades) dan diatur pH nya hingga mencapai 1 dengan menggunakan HCl pekat, selanjutnya larutan dipindahkan kedalam labu ukur 1 L dan ditambahkan air suling sampai volume larutan 1 L. Sedangkan untuk larutan *buffer* pH 4,5 digunakan asam asetat sebanyak 54,43 gram dicampur dengan 960 ml aquades. Kemudian pH diukur dan diatur dengan HCl pekat hingga diperoleh larutan pH 4,5. Selanjutnya larutan dipindahkan kedalam labu ukur 1 L dan diencerkan dengan aquades sampai volume 1 L.

3.5.7.2 Pengukuran dan Perhitungan Konsentrasi Antosianin Total

- Faktor pengenceran yang tepat untuk sampel harus ditentukan terlebih dahulu dengan melarutkan sampel *buffer* KCl pH 1 hingga diperoleh absorbansi kurang dari 1,2 pada panjang gelombang 510 nm.
- Selanjutnya diukur absorbansi aquades pada panjang gelombang yang akan digunakan (510 dan 700 nm) untuk mencari titik nol. Panjang gelombang 510 nm adalah panjang gelombang maksimum untuk sianidin-3-glukosida sedangkan panjang gelombang 700 nm untuk mengkoreksi endapan yang masih terdapat pada sampel. Jika sampel benar-benar jernih maka absorbansinya pada 700 nm adalah 0.
- Dua larutan sampel disiapkan, pada sampel pertama digunakan *buffer* KCl dengan pH 1 dan untuk sampel kedua digunakan *buffer* Na-asetat dengan pH 4,5. Masing-masing sampel dilarutkan dengan *buffer* berdasarkan FP (faktor pengenceran) yang sudah ditentukan sebelumnya. Sampel yang dilarutkan menggunakan *buffer* pH 1 dibiarkan selama 15 menit sebelum diukur sedangkan untuk sampel yang dilarutkan dengan *buffer* pH 4,5 siap diukur setelah dibiarkan selama 5 menit.
- Absorbansi dari setiap larutan pada panjang gelombang 510 dan 700 nm diukur dengan *buffer* pH 1 dan *buffer* pH 4,5 sebagai blankonya.
- Antosianin dari sampel yang telah dilarutkan ditentukan dengan rumus :

$$A = (A_{510} - A_{700})_{pH1,0} - (A_{510} - A_{700})_{pH4,5}$$

Kandungan pigmen antosianin pada sampel dihitung dengan rumus :

$$\text{Total Antosianin (mg/L)} = \frac{A \times BM \times FP \times 1000}{\epsilon \times l}$$

Keterangan :

A: Absorbansi

ε : absorbansi molar sianidin-3-glukosida = 26900 L/(mol.cm)

l : lebar kuvet = 1 cm

BM : berat molekul sianidin-3-glukosida = 449,2 g/mol

FP : faktor pengenceran (10 ml/ 0,1 ml)

3.5.8 Analisa Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (Hatano, dkk. 1989, dalam Karismawati, 2015)

Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam bentuk persentase penghambatan terhadap radikal DPPH (*scavenging activity*) yang dilihat dari absorbansi Panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer. Adapun tahapan Analisa aktivitas antrioksidan dengan metode DPPH sebgaia berikut:

A. Pembuatan Larutan DPPH

1. Menghitung kebutuhan serbuk DPPH dengan rumus:

$$\text{Konsentrasi} = \frac{\text{massa (mg)}}{\text{Mr} \times \text{volume (L)}} \times 100\%$$

2. Melarutkan serbuk DPPH kedalam ethanol 96%
3. Menyimpan larutan DPPH pada kondisi gelap dan tertutup rapat dengan kondisi dingin, serta sesegera mungkin digunakan

B. Ekstraksi Bahan Aktif

1. Menghaluskan sampel dengan mortal martil
2. Menimbang sampel sebanyak ± 1 g kedalam tube sentrifuse
3. Menambahkan ethalol 96% sebanyak 9 ml
4. Melakukan sentrifuse dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit
5. Menyaring untuk memisahkan supernatan

6. Melakukan uji aktifitas antioksidan

C. Analisa Aktivitas Antioksidan

1. Mengambil supernatan sebanyak 4 ml dan 4 ml ethanol 96% untuk blanko
2. Masukkan ke dalam tabung reaksi yang sudah terbungkus dengan alumunium foil
3. Menambahkan 1 ml larutan DPPH dan menghomogenkan
4. Menutup mulut tabung dengan alumunium foil
5. Menyimpan sampel pada kondisi gelap selama 30 menit
6. Membaca absorbansi sampel dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm
7. Menghitung % aktivitas antioksidan dengan rumus:

$$\text{Aktivitas antioksidan (\%)} = \frac{A \text{ blanko} - A \text{ larutan sampel}}{A \text{ blanko}} \times 100\%$$

3.5.9 Analisa Warna (*Color Reader*) (Anitamuina, 2013)

- a. Mengaktifkan color reader dengan menekan tombol on.
- b. Mengawali pengukuran dengan standarisasi alat menggunakan keramik standar yang memiliki nilai L, a dan b dimana L adalah kecerahan, nilai positif berarti cerah nilai negatif berarti suram, a adalah kemerahan nilai positif berarti merah nilai negatif berarti hijau, b adalah kekuningan nilai positif berarti kuning dan nilai negatif berarti biru.
- c. Menempelkan ujung lensa alat pada permukaan sampel yang akan diamati dan mengukur warnanya.

3.5.10 Uji Organoleptik *Hedonic Scale* (Yuwono, 1998; dalam Karismawati, 2015)

Uji organoleptik yang dilakukan meliputi warna, aroma dan rasa.

Pengujian menggunakan uji skala *hedonic* yang terdiri dari 5 nilai dengan 5 pernyataan (lampiran 1) dapat dilihat pada Tabel 5.

Table 5. Skor Organoleptik

No.	Skor Kenampakan	Skor Aroma	Skor Daya Hisap	Skor Rasa	Skor <i>Mouthfeel</i>
1.	Sangat tidak menarik	Sangat tidak suka	Sangat tidak kenyal	Sangat tidak enak	Sangat terasa tidak ada agel
2.	Tidak menarik	Tidak suka	Tidak kenyal	Tidak enak	Tidak terasa ada gel
3.	Cukup menarik	Cukup suka	Cukup kenyal	Cukup enak	Cukup terasa ada gel
4.	Menarik	Suka	Kenyal	Enak	Terasa ada gel
5.	Sangat menarik	Sangat suka	Sangat kenyal	Sangat enak	Sangat terasa ada gel

3.6 Analisis Data

3.6.1 Statistik

Pengolahan data pada penelitian ini menggunakan analisis ragam (ANOVA) dengan Uji F pada taraf 5% yang bertujuan untuk apabila terjadi berbeda nyata atau interaksi pada masing-masing perlakuan maka data yang sudah diperoleh akan dilanjutkan dengan uji pembeda menggunakan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) pada taraf 5%. Menurut Agus (2009), uji hipotesis dengan ANOVA digunakan, setidaknya karena beberapa alasan berikut: 1.) Memudahkan analisa atas beberapa kelompok sampel yang berbeda dengan resiko kesalahan terkecil. 2.) Mengetahui signifikansi perbedaan rata-rata (μ) antara kelompok sampel yang satu

dengan yang lain. Bisa jadi, meskipun secara numeris bedanya besar, namun berdasarkan analisa ANOVA, perbedaan tersebut tidak signifikan, sehingga perbedaan μ bisa diabaikan. Sebaliknya, bisa jadi secara numeris bedanya kecil, namun berdasarkan analisa ANOVA, perbedaan tersebut signifikan, sehingga minimal ada satu μ yang berbeda dan perbedaan μ antar kelompok sampel tidak boleh diabaikan.

3.6.2 Analisa Indeks Efektivitas

Uji De Garmo untuk menentukan perlakuan terbaik ditentukan dengan metode uji efektifitas De Garmo, dkk (1984). Prosedur penentuan perlakuan terbaik adalah sebagai berikut:

1. Variable diurutkan berdasarkan prioritas dan kontribusi terhadap hasil
2. Memberikan bobot nilai (BV) pada masing-masing variable sesuai dengan kontribusinya dengan angka relative 0-1
3. Menentukan bobot bormal (BN) dengan membagi BV dengan jumlah semua bobot variable
4. Mengelompokkan variable-variabel yang dianalisa menjadi 2 kelompok yaitu (a) variable; yang semakin besar reratanya semakin baik, (b) variable yang semakin besar reratanya semakin jelek
5. Menentukan Nilai Efektifitas (Ne), yaitu:

$$Ne = \frac{\text{Nilai perlakuan} - \text{Nilai terendah}}{\text{Nilai tertinggi} - \text{Nilai terendah}}$$